Lane Medical Library

1933

Vergleichende Untersuchungen über

Thrombocytenzählmethoden

und ihre klinische Brauchbarkeit

Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der medizinischen Fakultät der
Hessischen Ludwigs-Universität
zu Gießen

Vorgelegt von

Fritz Hermann Ploch

aus Gießen

1933

Brühl'sche Universitäts-Buch- und Steindruckerei, R. Lange, Gießen

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
zu Gießen.
Referent: Herr Privatdozent Dr. Büttner.

Die zunehmende Erkenntnis, daß die Thrombocyten im gesamten biologischen Geschehen eine große Rolle spielen müssen, hat die Frage nach dem Wesen dieser Gebilde in der letzten Zeit immer mehr in den Mittelpunkt des wissenschaftlichen Interesses gerückt. Es ist daher nicht verwunderlich, daß im Laufe der letzten zwanzig Jahre eine große Reihe von Arbeiten erschienen sind, welche sich mit diesem Bestandteil des Blutes beschäftigen und die Herkunft, die Funktion und Zahl der Blutplättchen kritisch beleuchten. Wenn auch in der Mehrzahl der Fragen weitgehende Übereinstimmung der Untersucher erzielt ist, so hat sich eine endgültige Klärung bisher erst in wenigen Punkten erreichen lassen. Besonders große Gegensätze finden sich immer noch bezüglich der Normalzahl der Thrombocyten im Blute des Menschen. Dies ist auch leicht erklärlich, wenn man bedenkt, daß es sich bei den Thrombocyten um die empfindlichsten und am leichtesten verletzlichen Gebilde des Blutes handelt, die wir kennen. Diese Tendenz zum Untergang stellt ja gerade das Typische dieser Gebilde dar, es sind „Morituri" (Bürker), dazu bestimmt, durch ihren Untergang im Falle der Gefahr Schäden von ihrem Träger abzuwenden. Daher kommt es, daß die Mehrzahl der bisher gebräuchlichen Methoden relativ große Schwankungen aufweist; gesunde Thrombocyten verändern sich eben sofort nach Verlassen der Blutbahn durch Gestaltsveränderung oder Zerfall. Auf die Ursachen soll bei der Besprechung der einzelnen Methoden noch genauer eingegangen werden. Zweck dieser Arbeit soll nun nicht sein, der großen Reihe der bisher angegebenen Methoden eine neue hinzuzufügen oder eine bestimmte Zahl als Normalwert festzustellen, sondern die verschiedenen Methoden auf ihre klinische Brauchbarkeit zu prüfen. Bei den außerordentlich großen Fehlerquellen aller Zählmethoden, die zum Teil in der angewandten Methodik und der Beschaffenheit des Hilfsmaterials, in der Hauptsache aber im Wesen der Thrombocyten selbst gelegen sind, kann es sich bei allen Zählungen nur um Annäherungswerte handeln, welche klinisch auch als solche gewertet werden und zur Orientierung dienen sollen. Aus dieser Erkenntnis heraus

halte ich es auch für verfrüht, mit den jetzigen Methoden Tagesschwankungen oder Veränderungen während der Verdauung feststellen zu wollen. Es gibt scharf umrissene Krankheitsbilder, zu deren Vollständigkeit eine mehr oder minder ausgeprägte Thrombopenie gehört, aber man sollte sich nach Möglichkeit vor zu weit gehenden Schlüssen aus einer geringen Anzahl von Zählungen hüten.

Es liegt eine sehr große Anzahl von Methoden zur Thrombocytenzählung vor, so daß es nicht möglich war, sämtliche angegebenen Methoden auf ihre klinische Brauchbarkeit zu prüfen. Das erwies sich aber auch als nicht notwendig, da eine Reihe von ihnen teils auf demselben Prinzip fußt, teils entweder in früherer Zeit schon widerlegt oder als unbrauchbar bezeichnet worden ist oder aber wegen ihrer Umständlichkeit für den klinischen Betrieb von vornherein ausscheidet. Von der ersten Kategorie nenne ich nur die Methoden von Bizzozzero (1), Brodie und Russel (2), Wright und Kinnicutt (3), Helber (4), Rebaudi (5), Sahli (6), Kemp und Calhoun (7), von der zweiten diejenigen von Kristenson (8), Thomsen (9) und Lampert (10). Von den älteren Methoden bleibt also nur die von Fonio (11). Von den in neuerer Zeit angegebenen wurden besonders die Zählmethoden von Floeßner (12) und Gutstein (13) einer kritischen Betrachtung unterzogen.

Um zu brauchbaren Zählungsergebnissen zu gelangen, habe ich nach den verschiedenen unten näher zu besprechenden Methoden eine möglichst große Anzahl von Untersuchungen angestellt. Ich bemerke dazu ausdrücklich, daß ich mich dabei genau an die Vorschriften der einzelnen Autoren gehalten habe. In manchen Fällen habe ich versucht, eigene Wege einzuschlagen, um den Fehlerquellen einzelner Methoden näherzukommen. Darüber wird jeweils an entsprechender Stelle eingehend berichtet werden.

Jeder Methode zur Zählung von Thrombocyten haften naturgemäß wesentlich höhere Fehlerprozente an als sie die Bestimmungen der anderen korpuskulären Elemente des Blutes aufweisen. Diese sind einerseits bedingt durch die überaus große Labilität dieser Gebilde, auf die ja eingangs schon hingewiesen wurde, andererseits aber durch die schädlichen Einflüsse des Materials, das wir zu jeder mikroskopischen Untersuchung brauchen, nämlich des Glases. Untersuchungen verschiedener Autoren (z. B. Deetjen (14), Lampert und Horwitz (15), haben ergeben, daß auf Glas die „kleinen Thrombocyten", die eine wesentlich geringere Resistenzfähigkeit besitzen sollen als die großen, sehr schnell zerstört werden. Glas soll für die Thrombocyten nahezu das ungeeignetste Material sein. Eine Anzahl von Autoren (außer den genannten auch Floeßner und Kristenson) hat daher ver-

sucht, das Glas möglichst weitgehend durch anderes Material zu ersetzen. Deetjen benutzte dazu Bernsteinobjektträger und -deckgläschen und konnte nun die Thrombocyten genau beobachten. Kristenson verwendete mit Olivenöl benetzte Pipetten. Lampert benutzte zuerst Athrombitobjektträger, die sich allerdings bei längerer Benutzung stark verbogen und dadurch unbrauchbar wurden. Lampert wandte dann Objektträger und Deckgläschen aus Preßbernstein an und erzielte damit die gleichen Ergebnisse wie Floeßner, welcher die Herstellung der Blutmischung in einem Paraffinblock vornahm und auf dessen Methode noch näher einzugehen sein wird. Trotz eingehender und komplizierter Untersuchungen in dieser Hinsicht ist aber der Einfluß des Glases auf die Thrombocyten noch keineswegs sichergestellt.

Außerdem muß in Betracht gezogen werden, daß sich die Blutplättchen nach Verlassen der Blutbahn nur beschränkte Zeit halten, zumal wenn durch irgendwelche Manipulationen während der Entnahme eine Mischung des Blutes mit Gewebssaft zustande kommt, welcher die Thrombocyten sehr schnell — ihrer physiologischen Aufgabe entsprechend — zum Zerfall bringt.

Diese Fehlerquellen zeigt naturgemäß auch die Foniosche Methode auf, die wohl als die im klinischen Betrieb am meisten angewandte anzusehen ist. Bei dieser Methode zur Zählung der Thrombocyten wird mit der Franckeschen Nadel ein nicht zu tiefer Einstich in die mit Äther gut gereinigte Fingerbeere gemacht, so daß erst bei ganz leichtem Zusammenklemmen des Fingers ein gut geformter Tropfen etwas zentralwärts von der Fingerkuppe austritt. Zuerst wird das Blut zur Erythrocytenzählung entnommen, die ich stets nach der Bürkerschen Methode ausgeführt habe. Dann wird die Fingerkuppe wieder mit Äther getrocknet, mit einem fein ausgezogenen Glasstab ein mäßig großer Tropfen einer 14%igen Magnesiumsulfatlösung auf die Einstichstelle gebracht und das Blut zum Heraustreten gebracht. Ein feiner Strahl fließt nun in den Tropfen und färbt ihn rötlich. Mit einem Glasfaden, der am Ende mit einem feinen Knöpfchen versehen ist und vor Gebrauch in die Magnesiumsulfatlösung getaucht wurde, um ein Ankleben der Trombocyten zu vermeiden, wird der Tropfen gut durchgemischt. Ein geschliffener Objektträger, der in Äther-Alkohol aufbewahrt wurde und sorgfältig getrocknet ist, wird nun leicht auf das Gemisch gedrückt — ein Druck auf den Finger darf damit unter keinen Umständen zustande kommen —, und mit einem zweiten Objektträger ein feiner Ausstrich gemacht. Das Präparat wird nach dem Lufttrockenwerden nach Giemsa gefärbt (Stärke der Lösung: 15 Tropfen Giemsa auf 10 ccm lauwarmen Wassers). Um eine Niederschlagsbildung zu vermeiden,

bringt man die Objektträger mit dem Ausstrich nach unten auf zwei Streichhölzer in die Farblösung und läßt sie dort 3—4 Stunden liegen. Nach Abspülung mit destilliertem Wasser und Trocknung stellt man mit Hilfe des Metzschen Zählokulars und des Ölimmersionsobjektivs das Verhältnis der Thrombocyten zu den Erythrocyten in den ausgezählten Quadraten fest. Gesichtsfelder mit Verunreinigungen und Klumpenbildungen müssen ausgelassen werden. Es wird auf 1000 Erythrocyten ausgezählt und die absolute Zahl der Thrombocyten nach der Formel

$$x = \frac{AB}{1000}$$

berechnet, wobei A die gezählte Plättchenzahl und B die in der Kammer gefundene Erythrocytenzahl darstellt. Fonio bezeichnet als Thrombocyten etwa kreisrunde Gebilde in der Größe von $^1/_3$—$^1/_5$ Erythrocyten, welche bei richtiger Einstellung scharf begrenzt sind. Mitunter sind sie an manchen Stellen zackig ausgezogen. Die Grundsubstanz ist stets klar und nach Giemsa ungefärbt; darin liegt eine Anzahl stark gefärbter kleiner Granula.

Fonio fand als Mittelwert seiner Ergebnisse 234000 Thrombocyten im Kubikmillimeter, was er daher als Normalwert der Thrombocyten im Blut des Mannes bezeichnet. Die z. T. um das Mehrfache höheren Werte anderer Zählmethoden ließen nun den Verdacht aufkommen, daß durch die angegebene Methodik viele Thrombocyten zerstört würden, so daß große Fehler und Ungenauigkeiten entstünden. Wenn auch meiner Ansicht nach die Fehler der Fonioschen Methode nicht so gewaltig sind wie von anderer Seite angenommen wird, so muß man doch zugeben, daß die oben genannten Fehlerquellen auch bei dieser Methode wirksam werden. So ist es durchaus möglich, daß schon während des Trocknens und Fixierens der ausgestrichenen Präparate die kleinen Thrombocyten, die nach Ansicht mancher Autoren über 50% aller Thrombocyten ausmachen sollen, alle oder doch zum größten Teil zugrunde gehen. Eine weitere Quelle von Fehlern ist die Art des Ausstrichs mittels Objektträger, an welchem immer ein gewisser Teil des auszustreichenden Tropfens hängen bleibt und eine unkontrollierbare Menge von Erythrocyten und Thrombocyten der Zählung entgeht. Zur Vermeidung dieser Fehlerquelle wurde einigemal der von Bürker angegebene Ausstrichapparat angewandt und Ausstriche auf Deckgläschen hergestellt, wobei sich allerdings nicht wesentlich höhere Werte ergaben als bisher. Nebenbei sei bemerkt, daß die Modifikation, auf hundert Leukocyten statt auf tausend Erythrocyten auszuzählen, wie es auch vorgeschlagen worden ist, praktisch einerseits keine Beschleunigung, sondern eine Verlang-

samung des Auszählens ergab, andrerseits sehr ungenaue Werte lieferte. Sie scheint mir auch theoretisch betrachtet falsch zu sein, denn in einem normalen Ausstrich ist die Zahl der Leukocyten gegenüber den Thrombocyten zu klein.

Meine nachfolgenden Zahlen stellen durchweg Mittelwerte aus Zählungen mindestens dreier gleichzeitig hergestellter Ausstriche dar.

Zählungen nach Fonio.

	Klinische Diagnose	Zahl der Thrombocyten im cmm in Tsd.
Sp. ♀	gesund	131
Wa. „	gesund	298
De. ♂	gesund	332
Lu. „	Arthritis	257
Ha. „	Gastritis	209
Eck. „	Gastritis	192
Go. „	Arthritis	165
Go. „	Arthritis	173
Go. „	Arthritis	121
Ri. „	Gastritis	233
Pi. „	Facialisparese	153
Pi. „	Facialisparese	205
Ba. „	Lymphatische Leukaemie	131
Ba. „	Lymphatische Leukaemie	136
He. „	Gastritis	145
To. „	gesund	129
Si. „	gesund	181
Na. „	gesund	166
Op. „	Colitis membranacea	219
Op. „	Colitis membranacea	209
Pa. „	gesund	206
Wi. „	Addison	201
Kr. „	gesund	149
Kr. „	gesund	270
Br. „	Gastritis	164
Br. „	Gastritis	150
Ha. „	Lymphatische Leukaemie	180
Lö. „	Gastritis	152
Wo. „	Cystitis	182
Bo. „	Paroxysmale Hämoglobinurie	242
Lü. „	Chronische Bronchitis	201
Ge. „	Pneumonie	245

Ge.	♂	Pneumonie	260
Ge.	„	Pneumonie	199
Ka.	„	Grippe	502
Ka.	„	Grippe	477
De.	„	Ischias	313
De.	„	Ischias	175
Wi.	„	Gastritis	364
Wi.	„	Gastritis	236
Wi.	„	Gastritis	292
St.	„	Chronische Bleivergiftung	245
St.	„	Chronische Bleivergiftung	215
St.	„	Chronische Bleivergiftung	300
Gr.	„	Urticaria	177
Gr.	„	Urticaria	212
Ki.	„	Herzneurose	120
Ki.	„	Herzneurose	194
Ga.	„	Arthritis	209
Ga.	„	Neurasthenie	230
Gr.	„	Urticaria	310
Ha.	„	Myeloische Leukaemie	399
Ha.	„	Myeloische Leukaemie	390
Bu.	„	Otitis	349
Rö.	„	sekundäre Anaemie	421
Pf.	„	Nachgrippe	373
Ge.	„	Chronische Bleivergiftung	262
		Mittel	234000

Die Ergebnisse zeigen, alle zusammen genommen, genau das Foniosche Mittel. Auffallend sind die großen Unterschiede bei demselben Patienten an verschiedenen Tagen bei sonst gleichbleibenden Bedingungen, auf die früher auch schon Kristenson und andere hingewiesen haben. Diese Unterschiede mahnen zur Vorsicht gegenüber Untersuchungen, die Tagesschwankungen und Veränderungen der Thrombocytenzahlen im Verlauf von Krankheiten feststellen wollen. Im großen und ganzen kann ich den Schlußfolgerungen Fonios beistimmen, der seine Grenze des Normalen gegenüber pathologischen Veränderungen allerdings recht eng zieht. Ich habe bei meinen Zählungen später einige geringfügige Modifikationen vorgenommen, die mir der Genauigkeit wegen erforderlich schienen. So habe ich zunächst die Tropfen auf der Fingerkuppe nicht mit einem Stäbchen durchgerührt, sondern sofort ausgestrichen, um möglichst schnell zu arbeiten. Eine solche Manipulation schien mir auch aus dem Grunde

überflüssig zu sein, weil eine gleichmäßige Verteilung der korpuskulären Elemente über die Breitseite des Objektträgers beim Ansetzen des Ausstrichobjektträgers stattfindet und die Ausstriche bei geeigneter Technik stets gleichmäßig und regelmäßig werden, wie ich feststellen konnte. Außerdem habe ich die Objektträger für die Ausstriche nicht in Äther-Alkohol aufbewahrt, da trotz sorgfältigster Reinigung die letzten Reste des im Äther gelösten Fettes nicht ganz entfernt werden konnten und die Ausstriche unregelmäßig wurden.

Es wäre wünschenswert, eine Methode zu haben, welche ein rasches und schonendes Trocknen und Fixieren der Präparate ermöglicht. Ich habe daher versucht, an Stelle der Magnesiumsulfatlösung, die nach Ansicht von Boshamer (16) besonders die kleinen Thrombocyten rasch zerstört, andere Verdünnungsflüssigkeiten zu benutzen und fand in der Hayemschen Flüssigkeit ein wie mir schien ganz brauchbares Mittel. Wie bei Fonio werden Ausstriche hergestellt, nur tritt an Stelle des Magnesiumsulfates Hayemsche Lösung. Die lufttrockenen Präparate können sofort ausgezählt werden. Ich habe eine Reihe von Fällen nach dieser Methode gezählt. Der Mittelwert aller Durchschnittsergebnisse, welche von mehreren Präparaten derselben Entnahmen stammten, lag bei 406000. Ich lasse meine Ergebnisse hier folgen.

	Klinische Diagnose	Zahl der Thrombocyten in ccm in Tsd.
Wi. ♂	Gastritis	521
Ga. „	Arthritis	489
St. „	Chronische Bleivergiftung	481
„ „	„ „	314
Ga. „	Neurasthenie	346
Gr. „	Urticaria	269
Ha. „	Bronchiektasie	325
„ „	„	371
Bu. „	Otitis	345
Rö. „	Sekundäre Anaemie	450
Pf. „	Nachgrippe	509
Ge. „	Chronische Bleivergiftung	505
Er. „	Muskelatophie	347
	Mittel	406000

Es ist natürlich auch hier die Möglichkeit vorhanden, daß infolge des Fehlens der Färbung eine Menge von Elementen mitgezählt worden sind, für deren Thrombocytennatur ein Beweis

nicht unbedingt erbracht werden konnte. Diese Unsicherheit fiel besonders in der letzten Zeit auf, was wohl auf bessere Einarbeitung zurückzuführen sein dürfte. Wenn sich auch zwischen ungefärbten und gefärbten Präparaten ebensowenig bedeutsame Unterschiede feststellen ließen wie bei Fonioschen Präparaten vor und nach der Färbung, so kann wegen der genannten Schwierigkeit diese Methode doch nicht als zur Thrombocytenzählung brauchbar angesehen werden.

Es ist häufig darauf hingewiesen worden, daß die tatsächliche Zahl der Thrombocyten im Kubikmillimeter wesentlich höher liegen müsse, als die Ergebnisse der Fonioschen Methode besagen. Es lag daher nahe, diejenigen Zählmethoden näher zu untersuchen, welche höhere Zahlen als die Fonioschen aufweisen. Hier sind besonders die Methoden von Floeßner und Lampert zu nennen. Die Resultate Lamperts nachzuprüfen erübrigte sich, da er die gleichen Fehler wie Floeßner macht. Was unten für Floeßner gesagt wird, gilt also auch für Lampert. Sehr eingehend habe ich mich dagegen mit der Methode Floeßners beschäftigt, da sie die höchsten und nach Angabe einzelner Autoren ziemlich regelmäßige Werte liefert. Ich habe diese Methode gewählt, obwohl in der Literatur eine Reihe von Stimmen laut geworden sind, die ihr nach den verschiedensten Richtungen widersprechen und sie ablehnen (z. B. Hartmann (17) und andere, jetzt auch Lampert). Trotz dieser Ablehnungen habe ich diese Methode gewählt, um durch eine genaue Prüfung festzustellen, ob nicht mittels geeigneter Modifikationen eine tatsächlich höhere Zahl von Thrombocyten im Kubikmillimeter gefunden werden könnte, andererseits um herauszufinden, was für Gebilde Floeßner eigentlich als Thrombocyten zählt.

Floeßner benutzt als Verdünnungsflüssigkeit Tyrodelösung, deren Zusammensetzung er wie folgt angibt:

$NaCl$	0,8%
$CaCl_2$	0,02%
KCl	0,02%
$MgCl_2$	0,01%
$NaHCO_3$	0,1%
NaH_2PO_4	0,005%

Die Lösung dieser Substanzen in destilliertem Wasser ergibt ein p_H von 7,4 und soll nach Floeßners Angaben sehr lange haltbar sein. Sie soll ein „anorganisches Serum" darstellen, so daß also die Thrombocyten genau in dem ihnen adäquaten Medium suspendiert bleiben. Zur Fixierung benutzt Floeßner eine Sublimatkochsalzlösung von offizinellen Sublimatpastillen in der Kon-

zentration 1:1000. Floeßner gewinnt das Blut für seine Untersuchungen wie Fonio durch Einstich in die Fingerbeere, aus der er einen Tropfen zu 30 Tropfen der angegebenen Tyrodelösung in einen ausgehöhlten Paraffinblock fallen läßt, um den Einfluß des Glases auf die Thrombocyten auszuschalten. Dazu kommen sechs Tropfen der einpromilligen Sublimatlösung zur Fixierung. Das Gemisch muß dann sofort mit einem paraffinierten Stab umgerührt werden, um eine Verklumpung zu vermeiden. Nachdem eine homogen rötliche Farbe eingetreten ist, wird mit dem Gemisch die Zeiß-Thomasche Zählkammer gefüllt und sofort in einer möglichst großen Anzahl nebeneinander liegender kleiner Quadrate das Verhältnis der Thrombocyten zu den Erythrocyten bestimmt. Da es sich hier ebenso wie bei Fonio um eine indirekte Methode der Zählung handelt, muß auch bei Floeßner die Zahl der Erythrocyten im Kubikmillimeter gesondert bestimmt werden.

Floeßner sah nach dieser Methode die Thrombocyten als meist birnförmige Gebilde, seltener als Spindelformen mit zwei Fortsätzen. Sie zeigten z. T. Brownsche Molekularbewegung, die also auch außerhalb vorhandener Strömungen als aktive Ortsbewegung sichtbar war. Bei dieser Bewegung zeigten die Thrombocyten deutlich grünlichen Glanz. Auf dieser Beobachtung fußend hat sie Deetjen schon seinerzeit als „Chlorocyten" bezeichnet. Irgendwelche Differenzierungen waren in dem ersten Stadium nicht zu erkennen, die Gebilde waren völlig homogen. Im gefärbten Präparat fand Floeßner wie die meisten andern Autoren eine besonders gut färbbare Zentralsubstanz. Er konnte nun beobachten, wie sich nach 20 Minuten die ersten Thrombocyten an Objektträger oder Deckglas ansetzten. Bei längeren Beobachtungen eines Präparates konnte er aber auch noch nach 24 Stunden und mehr einzelne Thrombocyten frei in der Flüssigkeit herumschwimmen sehen. Die meisten Thrombocyten quellen jedoch nach etwa einer halben Stunde, wobei die Fortsätze verschwinden und eine große Anzahl feiner Körnchen innerhalb eines fast durchsichtigen Plasmas auftreten. Ob diese Körnchen mit dem Kern verbunden waren, konnte Floeßner nicht entscheiden. Kurz vorher erschienen an den haftenden und freien Thrombocyten Fibrinfäden, so daß also die freien Thrombocyten Fibrinfäden und Plasmafortsätze aufwiesen. Nach einiger Zeit trat dann eine hyaline Substanz mit unscharfen Grenzen aus den Thrombocyten aus, von denen nach diesem Vorgang des Zerfließens nur eine Anzahl kleine, hellglänzende rundliche Körnchen zurückblieb, welche Floeßner für Haemokonien hielt. Mit dieser Methode stellte Floeßner Werte fest, welche im Mittel 760000 Thrombocyten

im Kubikmillimeter ergaben. Auch er gab an, daß Schwankungen der Werte bis zu 100000 bei demselben Patienten zu verschiedenen Zeiten sehr häufig gewesen seien.

Die Ergebnisse dieser Methode übertrafen wohl auch bei mir diejenigen Fonios meist um das Mehrfache, ließen aber jegliche Stetigkeit vermissen. Für die Beurteilung der Methode fiel das besonders schwer ins Gewicht, da, wie Floeßner selbst angibt, die Präparate sich nicht länger als dreißig Minuten halten, so daß es nicht möglich ist, mit dem einmal entnommenen Blut mehrere Zählungen nacheinander durchzuführen. Zu einer sorgfältigen Auszählung einer genügend großen Anzahl von Quadraten braucht man durchschnittlich eine halbe Stunde. Da mindestens zwei Zählungen unbedingt vorgenommen werden müssen, braucht man also den doppelten Aufwand an Untersuchern und Instrumentarium. Was aber Anlaß zu starken Bedenken gab, war die ungeheure Verschiedenheit der Ergebnisse, die bei den gleichen Patienten nicht nur an verschiedenen Tagen, sondern auch in zwei gleichzeitig untersuchten Präparaten aus derselben Mischung festzustellen waren. Ebenso große Unterschiede zeigten sich bei der Auszählung verschiedener Präparate der gleichen Entnahme, was ich zunächst auf die verschiedene Größe der fallenden Blutstropfen bezog. Denn hierin liegt sicherlich auch eine gewisse Erschwerung der Methodik, daß es bei Patienten besonders der handarbeitenden Bevölkerungsschichten nicht immer möglich sein wird, mehrere Blutstropfen schnell und ohne Druck von der Fingerbeere in die Verdünnungsflüssigkeit fallen zu lassen.

In den Floeßnerschen Präparaten kann man deutlich die großen Elemente, bei denen es sich zweifellos um Thrombocyten handelt, von bedeutend kleineren unterscheiden, welche sich fast alle in dauernder lebhafter Bewegung befinden und, wie schon Floeßner und Lampert gezeigt haben, nicht sedimentieren. Bei genügend kritischer Auszählung der Floeßnerschen Präparate ergibt sich eine annähernde Übereinstimmung der Zahlen der großen Thrombocyten mit den Fonioschen Werten, während die Zählungen der „kleinen Thrombocyten" Floeßners mitunter ganz außerordentlich hohe Werte ergaben (bis zu mehreren Millionen). Daraus geht hervor, daß es sich bei den von Floeßner als kleine Thrombocyten bezeichneten Gebilden nicht ausschließlich um echte Thrombocyten handeln dürfte, oder aber die tatsächliche Zahl der normalerweise in Kubikmillimeter vorhandenen Thrombocyten noch wesentlich höher liegt als alle bisher gefundenen Werte. Letzteres ist aber insofern unwahrscheinlich, als ich mehrfach bei nochmaliger Zählung der Floeßnerschen Präparate nach dreißig Minuten oder länger gegenüber der ersten Zählung ganz bedeutend

erhöhte Werte fand, eine Tatsache, die in diametralem Gegensatz zu den von Horwitz in der Frage der sogenannten Resistenzbestimmung gemachten Erfahrungen steht.

Horwitz kam zu seinen Ergebnissen auf folgendem Wege: Er untersuchte mit Tyrodelösung verdünntes Blut im Dunkelfeld und fand hier besonders günstige Bedingungen zum Studium der Fragilität der Thrombocyten. Er stellte dabei fest, daß diese sogenannten kleinen Thrombocyten eine sehr geringe Resistenz aufweisen. Sie zerfallen besonders leicht in unphysiologischen Lösungen und bei Berührung mit Glas, und sind daher seiner Ansicht nach schuld an dem Plättchenverlust. Auch er beobachtete wie Floeßner eine gewisse Zeit nach der Blutentnahme den Austritt von kleinen, stark lichtbrechenden Körnchen, welche er für gerinnungsfördernde Stoffe hält. Nachdem die Mehrzahl der „kleinen Thrombocyten" zerfallen ist, ist das Gesichtsfeld von diesen kleinen Körnchen übersät. Sind nun bei pathologischen Zuständen die großen jugendlichen Thrombocyten, welche bedeutend langsamer zerfallen als die kleinen, gegenüber den kleinen, labilsten im Blut vermehrt, ist somit die durchschnittliche Zerfallsgeschwindigkeit verzögert, so werden die Gerinnungsstoffe langsamer frei und die Thrombusbildung geht langsamer vor sich. Bei Fällen von haemorrhagischer Diathese, besonders in der thrombopenischen Phase, hat Horwitz nun eine starke Vermehrung der großen Thrombocyten und damit eine Resistenzerhöhung festgestellt. Da er bei der Beurteilung der Thrombocyten weniger ihre Anzahl im Kubikmillimeter als ihre Funktionstüchtigkeit ins Auge faßt, glaubt er in einer solchen Prüfung der Zerfallsgeschwindigkeit eine brauchbare Funktionsprüfung gefunden zu haben. Er läßt dazu einen Tropfen Blut, ähnlich wie bei der Floeßnerschen Methode, in etwa 50 Tropfen Tyrodelösung fallen, die sich in einem Paraffinblock befinden. Nach sorgfältigem Umrühren bringt er in konstanten Zeitabständen je einen Tropfen der homogenen Blutverdünnung in die Zeiß-Thomasche Zählkammer und stellt auf einer möglichst großen Fläche das Verhältnis der Thrombocyten zu den Erythrocyten fest. Er trägt nun die errechneten absoluten Zahlen in ein Koordinatensystem ein, dessen Abszisse die Zeitpunkte und dessen Ordinate die dazu gehörigen Zahlen darstellt und erhält so eine Kurve, die für normale Verhältnisse zuerst steil, dann allmählich langsamer abfällt. Bei einer Verzögerung der Zerfallsgeschwindigkeit sinkt die Kurve langsamer und kann bei schwerer Thrombopenie mit fast nur großen Plättchen eine der Abszisse fast parallel laufende Gerade bilden. Unter normalen Verhältnissen stellte Horwitz mit dieser Methode in der ersten halben Stunde eine Abnahme um etwa 10—15% fest.

Soweit die Ergebnisse von Horwitz. Mir ist es einfach unverständlich, wie man mit einer Methode, welche derartige Fehlerquellen aufweist, wie schon Hartmann nachgewiesen hat und worauf später noch näher eingegangen werden soll, so übereinstimmende Resultate erzielen kann, daß daraus solche weitgehenden Schlüsse gerechtfertigt wären, zumal ich bei sorgfältiger Prüfung häufig das Gegenteil festgestellt habe (siehe auch die Ergebnisse Jepsens (18).)

Eine weitere Schwierigkeit bei der Auszählung der Floeßnerschen Präparate besteht in der dauernden starken Bewegung der sogenannten „kleinen Thrombocyten", wodurch eine konstante Anzahl von Thrombocyten bei mehreren Zählungen des gleichen Quadrates nur selten gefunden wird, sei es, daß diese aus dem gezählten Bereiche auswandern oder daß sie unter Erythrocyten herwandern und so eine Zeitlang für das Auge unauffindbar sind. Man sieht sehr häufig, wie sie am Rande verschwinden und nach einiger Zeit auf der andern Seite wieder auftauchen. Ich habe zunächst versucht, durch wiederholtes Auszählen der einzelnen Quadrate genauere Werte zu bekommen, konnte dabei aber lediglich eine geringe Abnahme der großen Thrombocyten nachweisen. Gegen Austrocknung der Präparate schützte ich mich durch Auszählung in der feuchten Kammer nach Bürker.

Da auf diesem Wege übereinstimmende Ergebnisse nicht zu erzielen waren, habe ich nach dem Vorgang von Hartmann verschiedene Färbemethoden angewandt. Ich benutzte dazu in erster Linie den basischen Farbstoff Nilblau 2BX, der nach Angabe Gutsteins nahezu spezifisch zu Thrombocytenfärbungen geeignet sein soll. Ich konnte dabei feststellen, daß sich zwar die großen Thrombocyten deutlich färbten, an den kleinen Gebilden aber eine Färbung nicht zu erkennen war. Außerdem bestand bei allen Arten der Färbemethoden die Gefahr der Verklumpung und Niederschlagsbildung, so daß ich von weiteren Versuchen in dieser Richtung Abstand nahm.

Da also auch mit diesen Mitteln eine genauere Erkennung nicht möglich war, habe ich das Verdünnungsmittel, die Tyrodelösung, einer genaueren Betrachtung unterzogen. Schon Hartmann und Lampert haben bei selbst kurzem Stehenlassen der Tyrodelösung im Leerversuch Gebilde gesehen, welche den sogenannten „kleinen Thrombocyten" Floeßners täuschend ähnlich waren. Ich konnte diese Befunde bestätigen. Ebenso wie Hartmann fiel mir auf, daß die Zahl der großen Thrombocyten allmählich abnahm, während die „kleinen Thrombocyten" sich dauernd vermehrten. Die Schlußfolgerung Hartmanns, daß es sich hier lediglich um Kunstprodukte handele, kann ich be-

stätigen. Lamperts Anschauung dagegen, daß diese Gebilde Kristalle aus Calziumkarbonat aus dem Glas darstellten, halte ich für nicht ganz richtig, obwohl auch das vorkommen mag. Ich glaube, daß es sich bei deren überwiegender Mehrzahl um Gebilde handelt, auf deren Aetiologie weiter unten näher eingegangen werden soll.

Bei den ersten Untersuchungen hielt ich diese kleinen Partikelchen für kleinste Fett- oder Lipoidtröpfchen. Ich versuchte daher, eine künstliche Vermehrung dieser Gebilde im Blut hervorzurufen, indem ich Kaninchen ein intravenös verträgliches Lezitinpräparat (Helpin) und später Olivenöl in die Blutbahn einspritzte und vorher und nachher das Blut nach der Floeßnerschen Methode untersuchte. Eine deutliche Vermehrung dieser Gebilde war aber im Verlauf dieser Versuche nicht festzustellen.

Da ich der Kenntnis von der biologischen Natur dieser kleinen Partikelchen für die Erforschung des Thrombocytenproblems große Bedeutung beimaß, bin ich zur Dunkelfeldbeobachtung der Floeßnerschen Präparate übergegangen. Mithilfe einer auswechselbaren Dunkelfeldapparatur konnte ich in jedem Feld jedes dieser fraglichen kleinen Gebilde abwechselnd im Hell- und im Dunkelfeld ansehen und so manche Einzelheiten wesentlich besser erkennen. Bei dieser Art der seitlichen Beleuchtung leuchten bekanntlich nur Konturen auf. Die Helligkeit dieser Konturen richtet sich nach dem Verhältnis des Brechungsexponenten der Substanzen zu dem des umgebenden Mediums. Nach genügender Einarbeitung auf diesem Gebiet konnte ich feststellen, daß die Thrombocyten in der Floeßnerschen Tyrodelösung wie in der Hayemschen Flüssigkeit im Dunkelfeld als schwer sichtbare, in ihrer ganzen Fläche matt leuchtende Gebilde von verschiedener Größe zu erkennen sind, welche keine aktive Bewegung zeigen und unregelmäßig begrenzt sind. Sie entsprechen in der Zahl annähernd, in der Gestalt genau den Thrombocyten, die man bei Fonio zählt. Alle andern, im Dunkelfeld hell aufleuchtenden Gebilde mit mehr oder weniger starken Konturen halte ich nicht für Thrombocyten. Es ist mir absolut unverständlich, wie aus den von mir beschriebenen „großen" Thrombocyten, die aus Protoplasma und einer Zentralsubstanz bestehen, im Laufe ihrer Weiterentwicklung die von Floeßner und anderen Autoren als „kleine" Thrombocyten bezeichneten Gebilde entstehen sollen, welche im Dunkelfeld als runde, scharfbegrenzte Formen ohne jede Struktur deutlich hell zu erkennen sind; diese haben demnach einen andern Brechungsexponenten als die echten Thrombocyten. Es fiel mir auf, daß in gequetschten Präparaten Bruchstücke von Erythrocyten in derselben Helligkeit aufleuchteten. Es gibt natür-

lich Größenunterschiede in gewissen Grenzen bei den Thrombocyten wie bei allen korpuskulären Elementen des Blutes, alle diese Formen zeigen dann aber im Dunkelfeld die gleiche oben gekennzeichnete Struktur. Daß es sich bei den größeren dieser Gebilde — den echten Thrombocyten — um jugendliche Formen handelt, scheint mir sowohl aus der Analogie mit der Entwicklung der Leukocyten als auch aus den Befunden von Horwitz und anderen bei haemorrhagischer Diathese und Thrombopenie hervorzugehen, die ich bei einigen pathologischen Fällen auch bestätigen konnte. Die Riesenplättchen (siehe auch bei Naegeli), die Megalochlorocyten Deetjens, wie sie mitunter bei diesen Erkrankungen gefunden werden, sind wohl als die unreifen Vorstufen der normalen Thrombocyten gewöhnlicher Größe anzusehen. Auch Boshamer hält ihr Auftreten für ein Zeichen angestrengter Regeneration, Stahl (19) vergleicht sie mit Myelocyten. Ich muß also auf Grund meiner Beobachtungen im Dunkelfeld die Identifizierung sämtlicher von Floeßner und andern Autoren als „kleine Thrombocyten" bezeichneten Gebilde als echte Thrombocyten ablehnen. Auch im Dunkelfeld konnten bei kritischer Auszählung der „großen" Thrombocyten Werte in der Fonioschen Größenordnung erzielt werden, jedoch machen die Zählungen bei der Kompliziertheit der Methodik keinen Anspruch auf Genauigkeit und praktische Brauchbarkeit. Bei der von Floeßner und den ihm nachfolgenden Autoren angewandten Tyrodelösung kommt nun als ungünstig einwirkendes Moment noch hinzu, daß nach kurzem Stehen, wie schon erwähnt, in ihr Gebilde entstehen, welche den von Floeßner gezählten „kleinen Thrombocyten" sehr ähnlich sehen.

In meiner Ansicht über die wahre Natur dieser fraglichen Elemente wurde ich sehr bestärkt durch eine kürzlich erschienene Publikation Doerrs (20), der sich aus ganz andern Gesichtspunkten heraus mit der Analyse dieser kleinen Gebilde beschäftigte. Doerr wandte sich gegen die These v. Neergaards (21), der in diesen kleinen Körperchen „obligate Blutparasiten" gefunden zu haben glaubte, da er sie im Blut sämtlicher von ihm untersuchten Warmblüter einschließlich des Menschen fand. Es ist bezeichnend für die Schwierigkeiten, die sich bei der Identifizierung dieser Teilchen erheben, daß sie von vier verschiedenen Autoren für vier derartig grundverschiedene Dinge angesehen werden konnten: von der einen Seite als Thrombocyten, von der andern als Bakterien, von dritter als Calziumkarbonatkristalle und endlich von vierter Seite als Produkte beginnender Haemolyse und als Haemokonien. Doerr beobachtete, ebenso wie v. Neergaard und Auer (22), daß im einfachen Frischblutpräparat ohne

Zusatz die Erythrocyten mit der Zeit spontan haemolysieren und ganz unregelmäßige und bizarre Formen annehmen können, Umformungen zu Schatten, Makrocyten, Mikrocyten, zu keulen- und spindelförmigen, ja zu polyedrischen und mit geißelartigen Fortsätzen versehenen Gebilden. Die kleinen, nach einiger Zeit in allen Präparaten auftretenden Körnchen hält er für Haemokonien. Auch ich halte in bezug auf die Floeßnerschen Präparate, welche genau so aussehen wie die von Doerr veröffentlichten Bilder, diese fraglichen Gebilde für Zerfallsprodukte der Erythrocyten. Einige dieser Teilchen mögen auch aus der Tyrodelösung selbst stammen. Nebenbei soll noch darauf hingewiesen werden, daß sich auch in bluthaltigen Urinsedimenten um manche Erythrocyten herum ein Kranz dieser „kleinen Thrombocyten" Floeßners ohne Zweifel erkennen läßt. Auch dieser Befund läßt sich mit meinen und Doerrs Ergebnissen ohne weiteres erklären und spricht nicht gerade zugunsten Floeßners, denn es ist nicht sehr wahrscheinlich, daß sich Thrombocyten in Flüssigkeiten, wie Urin, dessen p_H dem des Blutes keineswegs entspricht, solange halten, daß sie nach den verschiedensten Manipulationen, Sedimentieren usw. noch nach Stunden im Hell- und Dunkelfeld klar zu erkennen sind. (Siehe auch die oben zitierte Arbeit von Horwitz über die „Resistenzbestimmung".)

Auf v. Neergaards Beobachtungen über die Lage dieser kleinen Gebilde zu den Erythrocyten oder Erythrocytenschatten sowie auf seine Einteilung in „Flimmer"- und „Körnchenringe" braucht hier nicht eingegangen zu werden, da es den Rahmen dieser Arbeit überschreitet. Sicher ist jedenfalls — und das allein ist hier wichtig — um Thrombocyten handelt es sich dabei nicht. Auf die Einteilung der besprochenen Gebilde nach Boshamer, auf seine Forderung der getrennten Auszählung nach den verschiedenen Größen zur Feststellung der prozentualen Verhältnisse im Einzelfall braucht ebenso wie auf die Frage der sogenannten Resistenzbestimmung aus diesen Gründen nicht mehr eingegangen zu werden. Im Hinblick darauf erübrigt sich auch eine Nachprüfung der Zählmethode Lamperts, denn auch er zählte diese kleinen Gebilde als Thrombocyten.

Um die gewaltige Verschiedenheit der Ergebnisse zu kennzeichnen, die auch Hartmann kritisiert, lasse ich meine Resultate von Zählungen nach der Floeßnerschen Methode hier folgen. Soweit zwei Zahlen vorhanden sind, handelt es sich um zwei gleichzeitige Zählungen, deren Material meist zwei gleichzeitig bereiteten Lösungen entstammte. Die Ergebnisse von Zählungen im Dunkelfeld, welche gleichzeitig vorgenommen wurden, füge ich bei; mit Ausnahme der beiden mit × bezeichneten Fälle

handelt es sich stets um zwei verschiedene Blutmischungen derselben Entnahme.

	Diagnose	Datum	Floeßner I	Floeßner II	Dunkelfeld
De. ♂	Ischias	24. I.	1180		
„ „	„	14. II.	330	1520	
„ „	„	25. I.	470		
Bo. „	Paroxym. Hb-urie	26. I.	273		
Lü. „	Chron. Bronchitis	28. I.	275	189	
Ge. „	Pneumonie	31. I.	414	605	
„ „	„	2. II.	870	400	
Ka. „	Grippe	7. II.	1453	1144	
„ „	„	8. II.	1530	630	
Wi. „	Gastritis	15. II.	680	4816	
„ „	„	2. III.	951	970	
„ „	„	24. II.	350	360	170
St. „	Bleivergiftung	16. II.	440		
„ „	„	4. III.	530	470	
„ „	„	8. III.	360	381	
Op. „	Colitis membran.	17. II.	339	1710	
Ga. „	Arthritis	3. III.	923		
Gr. „	Urticaria	7. III.	408	304	
„ „	„	22. II.	2100	1400	290
„ „	„	23. II.	1800	1500	215
Ha. „	Bronchiektasie	9. III.	1160	817	
× „ „	„	15. III.	510		585
Bu. „	Otitis	10. III.	917	745	
Rö. „	Sek. Anaemie	11. III.	740	770	
Pf. „	Nachgrippe	13. III.	650	438	
Ki. „	Herzneurose	27. II.	531	326	141
× Ge. „	Bleivergiftung	14. III.	823		852

Aus diesen Zahlen Mittelwerte zu bilden, hielt ich nicht für angängig, zumal bei den Resultaten eine mittlere Breite nicht festzustellen ist, auf Grund deren die extrem hohen und niederen Werte als Streuung aufgefaßt werden könnten. Zählungen von Fonioschen Präparaten im Dunkelfeld ergaben gleiche Resultate wie im Hellfeld.

Während in den vorhergehenden Fällen Methoden besprochen wurden, welche entsprechend der Tatsache, daß die Zahl der Thrombocyten bei ihnen aus dem Verhältnis zu den Erythrocyten berechnet wird, als indirekte zusammengefaßt werden können, so soll im folgenden in der in jüngster Zeit angegebenen Gutstein-

schen eine direkte Methode zur Bestimmung der Thrombocytenzahl im Kubikmillimeter näher betrachtet werden. Diese Methode wurde gewählt, weil mir das gute Übereinstimmen der 13 veröffentlichten Zählungen nach dieser Methode auffiel, und eine deutliche Färbung sicherlich ein souveränes Mittel zur Vermeidung von Fehlzählungen darstellt.

Gutstein benutzt als Verdünnungsflüssigkeit folgende Lösung:

Nilblau 2BX	0,05 g
Magnesiumsulfat	7,0 g
Aqua dest.	100,0 g

Diese Lösung muß nach Herstellung filtriert werden. Zur Gewinnung der von Gutstein vorgeschlagenen Blutmischung wird Blut aus der Vene entnommen und in der Spritze mit 3,8%iger Natriumzitratlösung im Verhältnis 4:1 verdünnt. Diese möglichst gleichmäßige Mischung wird in einer Erythrocytenpipette bis zur Marke 1 aufgezogen und dann die oben angegebene Verdünnungsflüssigkeit bis zur Marke 101 nachgesogen. Dann wird der gesamte Inhalt der Pipette in ein Kölbchen ausgeblasen und gut durchgeschüttelt. Nach etwa 5 Minuten kann die Zählkammer mit der blauen Flüssigkeit beschickt werden. Nach Gutsteins Angabe habe ich stets die Bürkersche Kammer benutzt. Die Auszählung kann erst 5—10 Minuten nach Beschickung der Kammer beginnen, da die Thrombocyten sich erst zu Boden senken müssen. Man kann während dieser Zeit erst die Erythrocyten zählen, welche nach Gutsteins Angabe ziemlich unverändert sind, während die Thrombocyten als runde oder ovale hellblau bis blau leuchtende Gebilde deutlich zu erkennen sein sollen. In der Bürkerschen Kammer zählt man die Thrombocyten in 25 großen Quadraten. Entsprechend der Verdünnung mit Natrium citricum muß die so erhaltene Summe mit $^5/_4$ multipliziert werden, um die Gesamtzahl der Thrombocyten im Kubikmillimeter in Tausenden zu ergeben. Bei der Zählung der Erythrocyten muß natürlich auch der gefundene Wert mit $^5/_4$, der Verdünnung entsprechend, vervielfältigt werden. Als häufigste Fehlerquelle nennt Gutstein das Verwechseln von Thrombocyten mit Eiweißniederschlägen, die von früheren Zählungen herrühren könnten; er schreibt daher vor jeder Zählung eine mikroskopische Untersuchung der Zählkammer im Leerversuch vor, damit man sich von der Sauberkeit der Kammer überzeugen oder solche Niederschläge gegebenenfalls entfernen kann. Eine Verwechslung von Thrombocyten mit kleinen Farbniederschlägen hält Gutstein für leicht vermeidlich; er zählt als Thrombocyten nur diejenigen hellblauen oder blauen Körperchen,

welche rund oder oval und scharf begrenzt sind. Bei Benutzung der Mikrometerschraube leuchten sie meist zentral etwas hell auf.

Gutstein hat zur Ermittlung des normalen Durchschnittswertes die Ergebnisse von 13 Zählungen nach seiner Methode veröffentlicht; er hat als Mittelwert 245000 Thrombocyten im Kubikmillimeter erhalten. Ich habe mich streng nach den genannten Vorschriften gerichtet und lasse hier die Ergebnisse von 53 normalen Fällen folgen, die ich nach dieser Methode ausgezählt habe. Meine Resultate stellen Mittelwerte von je vier Zählungen aus einer Entnahme dar. Zur Vermeidung des Austrocknens während der Zählung benutzte ich wiederum die feuchte Kammer.

	Datum	Thrombocytenzahl in Tausend
Sp. ♂	15. X. 32	193
Sch. „	18. X. 32 (vorm.)	137
„ „	18. X. 32 (nachm.)	145
„ „	19. X. 32	150
Wa. „	20. X. 32	178
Ha. „	11. XI. 32	155
Eck. „	14. XI. 32	180
Ri. „	23. XI. 32	112
Go. „	28. XI. 32	135
„ „	20. XII. 32	122
Ba. „	29. XI. 32	144
„ „	16. I. 33	125
„ „	20. I. 33	128
He. „	2. XII. 32	123
To. „	14. XII. 32	103
Si. „	15. XII. 32	153
Na. „	17. XII. 32	127
Op. „	19. XII. 32	139
Pa. „	23. XII. 32	119
Wi. „	28. XII. 32	157
Kr. „	30. XII. 32	143
„ „	21. II. 33	151
Br. „	6. I. 33	166
„ „	10. I. 33	186
Ha. „	11. I. 33	166
Lö. „	12. I. 33	128
Wo. „	13. I. 33	151
Pi. „	14. I. 33	162
Bo. „	26. I. 33	125

Ge.	♂	2. II. 33	145
Ka.	„	7. II. 33	559
„	„	8. II. 33	547
De.	„	11. II. 33	128
Wi.	„	15. II. 33	338
„	„	2. III. 33	302
St.	„	16. II. 33	389
„	„	4. III. 33	144
Gr.	„	22. II. 33	149
Rö.	„	11. III. 33	428
Ge.	„	14. III. 33	321
De.	„	8. XI. 32	232
Lu.	„	10. XI. 32	230
Ge.	„	31. I. 33	208
„	„	9. II. 33	259
De.	„	14. II. 33	247
Op.	„	17. II. 33	274
Wi.	„	24. II. 33	250
Ga.	„	3. III. 33	207
„	„	6. III. 33	234
Gr.	„	7. III. 33	203
St.	„	8. III. 33	251
Bu.	„	10. III. 33	209
Pf.	„	13. III. 33	249

Mittel sämtlicher Werte 202000

Wie aus der Zusammenstellung hervorgeht, liegt nach meinen Ergebnissen der Mittelwert nach der Gutsteinschen Methode bedeutend niedriger als er von Gutstein selbst angegeben worden ist. Ich habe aus der Tabelle meine Fälle mit Ergebnissen zwischen 200 und 300000 (ebenfalls 13) am Schluß zusammengezogen, wie aus den beigegebenen Daten hervorgeht, so daß diese Werte nicht etwa als genauer zu betrachten oder auf ein besseres Beherrschen der Technik zurückzuführen sind. Das arithmetische Mittel dieser letzten Werte liegt bei 239000, also demjenigen Gutsteins bedeutend näher. Es ist aber nicht angängig, aus einer größeren Anzahl von Zählungen diejenigen Resultate auszuwählen, welche in der gewünschten Größenordnung liegen.

Zusammenfassend muß über die Gutsteinsche Methode gesagt werden, daß sie sich weder zu wissenschaftlichen noch zu praktisch-klinischen Zwecken eignen dürfte, und zwar aus folgenden Gründen:

1. ist ihre Technik trotz der Möglichkeit der direkten Zählung der Thrombocyten in der Kammer so umständlich und zeit-

raubend, daß ihr aus diesen Gründen die Foniosche Methode sicherlich vorzuziehen ist;

2. werden wiederholte Venenpunktionen bei der Notwendigkeit mehrerer Untersuchungen im klinischen Betrieb meist auf den Widerstand der Patienten stoßen und die Einführung der Methode in die Klinik erschweren;

3. sind die Fehlerquellen auch bei dieser Methode bedeutend, einmal infolge der Entnahme mit der Spritze, dann durch die Schwierigkeit der Unterscheidung kleiner Farbteilchen von echten Thrombocyten. Außerdem zeigt sie die geringsten Werte von allen Methoden auf, was auch gegen die Richtigkeit ihrer Ergebnisse spricht. Völlig unbrauchbar ist sie besonders zur Erythrocytenzählung, bei der Fehler bis zu 100% gegenüber der Methode Bürkers festgestellt wurden (3,8 gegen 7,4 Millionen oder 5,5 gegen 9,7 Millionen nach Gutstein!).

Aus dem Vorstehenden ergibt sich mit aller Deutlichkeit, daß die Gutsteinsche Methode zur Thrombocytenzählung abzulehnen ist, da meiner Meinung nach die Methode von Fonio mit einfacheren Mitteln bessere Ergebnisse liefert.

Die Methoden, welche von Kristenson und von Thomsen zur Thrombocytenzählung angegeben worden sind, habe ich nicht eingehender auf ihre klinische Brauchbarkeit untersucht, da sie infolge ihrer komplizierten Methodik aus dem Rahmen dieser Arbeit herausfallen. Wieweit sie zu wissenschaftlichen Zwecken brauchbar sind, soll dahingestellt bleiben. Auf die Nachteile der Thomsenschen Methode hat außerdem Kristenson bereits ausführlich hingewiesen. Aus der Erkenntnis heraus, daß sich in jedem nicht fixierten Blutpräparat ohne Einwirkung von seiten des Untersuchers nach einiger Zeit weitgehende Veränderungen des Aussehens der verschiedenen korpuskulären Elemente einstellen (siehe auch die Arbeit Doerrs), halte ich bis jetzt alle nicht fixierenden Methoden zur Thrombocytenzählung für ungeeignet. Ebenso glaube ich, daß die verschiedenen Methoden, welche mit Hilfe der Zentrifuge im Reagensglas eine Schicht von reinen Thrombocyten gewährleisten sollen, wegen der dazu erforderlichen Exaktheit bei den im klinischen Betrieb damit verbundenen Schwierigkeiten über ein wissenschaftliches Interesse nicht hinauskommen dürften.

Meine Untersuchungen haben, besonders auch bei den nachfolgenden pathologischen Fällen, weiter gezeigt, daß es bei der Beurteilung der Thrombocyten nicht allein auf ihre Zahl, sondern auch auf ihre Gestalt und Größe ankommt. Die Untersuchung der Thrombocyten in dieser Richtung läßt sich mit Hilfe einer von Bürker angegebenen einfachen Methode durchführen, indem

man einen Tropfen Blut in einem Paraffinblock 30 Minuten absetzen läßt und nun mit einer Öse die Thrombocyten in der obersten Serumschicht dieses Tropfens abheben und auf einen Objektträger ausstreichen kann. Es lassen sich so Präparate herstellen, die fast ausschließlich Thrombocyten enthalten und ein getreues Bild von deren Form und Größe geben.

Bei zwei mir zur Verfügung stehenden Patientinnen mit starker Thrombopenie konnte ich die Methoden, welche mich besonders interessierten, auch unter pathologischen Verhältnissen prüfen und vergleichende Zählungen nach den verschiedenen Arten vornehmen. Besonders bemerkenswert war der eine Fall, bei dem während der gesamten Beobachtungszeit weder nach der Fonioschen Methode noch in Hayemausstrichen auch von andern Untersuchern Thrombocyten mit Sicherheit gezählt werden konnten; ähnliche Fälle sind auch von Lampert und Hartmann beschrieben worden. Hier war auch die qualitative Probe Bürkers niemals mit Sicherheit positiv. Es liegt daher die Vermutung nahe, daß es sich auch bei den Gebilden, die nach Gutstein und Floeßner gezählt wurden, nicht um Thrombocyten gehandelt hat. Bei der andern Patientin sah ich in den Fonioschen Präparaten konstant eine geringe Menge außerordentlich großer Thrombocyten, die auch bei der Betrachtung dieser Präparate im Dunkelfeld einwandfrei als Thrombocyten zu erkennen waren, während bei Floeßner zwar eine große Menge kleinerer Gebilde, aber nur ganz vereinzelt solche Riesenthrombocyten gefunden werden konnten. Diese beiden Fälle zeigen auch noch einmal sehr anschaulich die Unwahrscheinlichkeit und Ungenauigkeit der Floeßnerschen Werte. Die Ergebnisse meiner vergleichenden Zählungen bei diesen Patientinnen lasse ich hier folgen.

Datum	Fall	Gutstein	Floeßner I.	Floeßner II.	Dunkelfeld	Hayemausstrich	Fonio	Bürker
17. 1.	Ka.	40					keine	(+)?
1. 2.	„	71	100	94			keine	(+)?
10. 2.	„	83	508	894			keine	(+)?
6. 4.	„	5				keine	keine	(+)?
16. 11.	Me.	9.5					20	+
3. 2.	„	161					46	+
6. 2.	„		767				85	
16. 3.	„	73	349		1400	164		+
17. 3.	„		610	406			125	
18. 3.	„		710		1675	120	83	

Zusammenfassung.

Es wurde eine Reihe moderner Thrombocytenzählmethoden in vergleichenden Zählungen auf ihre klinische Brauchbarkeit untersucht. Es sollte geprüft werden:

1. ob die Foniosche Methode wirklich zu niedrige Werte liefert,
2. ob die untersuchten Methoden wesentliche Verbesserungen gegenüber der Fonioschen darstellen,
3. welche Fehler den Methoden überhaupt anhaften.

Die Untersuchungen hatten folgende Ergebnisse:

1. Der Mittelwert von 56 nach Fonio untersuchten Patienten mit verschiedenen Krankheiten (außer Thrombopenie), von denen je drei Präparate ausgezählt wurden, entsprach genau dem von Fonio angegebenen (234000). Ungefärbte Foniosche Präparate ergaben ausgezählt die gleichen Werte.

2. Die Floeßnersche Methode muß vollständig abgelehnt werden, da die dort gezählten Gebilde, wie von anderer Seite auch schon festgestellt wurde, zum größten Teil keine Thrombocyten darstellen. Im Dunkelfeld sind die echten Thrombocyten von den von Floeßner als Thrombocyten gezählten Teilchen deutlich zu unterscheiden. Die Analyse dieser Gebilde ergab, daß es sich im wesentlichen um Produkte der beginnenden Haemolyse handelt.

3. Viermal 53 nach Gutstein ausgezählte Präparate ergaben einen Mittelwert von 202000 gegenüber dem Gutsteinschen Mittel von 245000. Die Methode ist als recht umständlich anzusehen und zeigt gegenüber der Fonioschen keinerlei Überlegenheit. Die Erythrocytenzählung nach dieser Methode ergibt Fehler bis zu 100%.

4. Die Methoden von Kristenson, Thomsen u. a. erweisen sich nach ihrer Technik für die Klinik als zu umständlich. Auf eine genauere Nachprüfung dieser Methoden konnte verzichtet werden, da ausreichende Literaturangaben über sie vorliegen.

Alle meine Untersuchungen haben gezeigt, daß die Foniosche Methode bisher die für die Klinik brauchbarste ist. Die dieser Methode anhaftenden Ungenauigkeiten konnten durch andere Methoden bisher nicht beseitigt werden. Alle Methoden erscheinen mir nicht exakt genug zu sein, um damit Tagesschwankungen und geringgradige Veränderungen im Verlauf von Krankheiten feststellen zu können. Da die Thrombocytenzahlen anscheinend schon physiologischerweise starken Schwankungen unterworfen sind, haben nur beträchtliche Veränderungen der Thrombocytenzahlen, die durch wiederholte Zählungen bestätigt werden, diagnostischen Wert.

Es ist mir ein Bedürfnis, an dieser Stelle Herrn Geheimen Medizinalrat Professor Dr. Voit für die freundliche Themastellung zu danken. Auch Herrn Privatdozent Dr. Büttner bin ich für die vielen Anregungen zu besonderem Dank verpflichtet.

Lebenslauf.

Der Unterzeichnete, Fritz Hermann Karl Wilhelm Ploch, wurde am 31. August 1908 zu Gießen geboren und besuchte von Ostern 1915 bis Ostern 1927 das Landgraf-Ludwigs-Gymnasium in Gießen, wo er am 14. Februar 1927 das Maturitätsexamen bestand. Die nun folgenden drei ersten Semester — vom Sommersemester 1927 bis Sommersemester 1928 — brachte Unterfertigter in Gießen zu, das vierte in Freiburg i. Breisgau, das fünfte wiederum in Gießen, wo er zu Beginn des sechsten Semesters im Herbst 1929 die ärztliche Vorprüfung bestand. Von den nun folgenden klinischen Semestern studierte Unterfertigter das sechste wiederum in Freiburg i. Breisgau, das siebente in Kiel, das achte in München, das neunte in Wien und kehrte dann im zehnten und elften wieder nach Gießen zurück, wo er am 16. Dezember 1932 die ärztliche Prüfung bestand. Seit Ende Dezember 1932 ist Unterfertigter als Medizinalpraktikant an der Medizinischen Universitätsklinik in Gießen tätig.

Gießen, den 1. April 1933.

gez. Fritz Hermann Ploch.

Literaturverzeichnis.

Allgemeines über Thrombocyten:

Naegeli, Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. 5. Auflage.
Degkwitz in Abderhaldens Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. IV, Teil 3. 1924. S. 393.
Bethe, Handbuch Band 6, Hälfte 2, S. 3.
Schilling, Fol. haemat. 1912. 14.
Wedekind, Kli. Wo. XII, Nr. 3, S. 103ff.

Spezielles:

1. Bizzozzero, Zeitschrift für Mikroskopie 1891, Bd. 1, S. 459.
   Derselbe, Virchows Archiv 1885, Bd. 90, S. 261.
2. Brodie und Russel, Journal für Physiologie, Bd. 21, S. 97.
3. Wright und R. Kinnicutt, Publications of the Massachusetts General Hospital Boston. Oktober 1911. Bd. 3, Nr. 3.
4. Helber, Deutsches Archiv für klin. Med. 1904, Bd. 81, 82, S. 41.
5. Rebaudi, Arch. ital. ginecol., 10. Bd. 2, Nr. 1.
6. Sahli, Klinische Untersuchungsmethoden.
7. Kemp und Calhoun, Americ. Journ. of Physl. 1901, Bd. 10.
8. Anders Kristenson, Acta med. scand. (Stockholm) 1922, 57, 301.
9. Oluf Thomsen, Acta med. scand. 1920, Bd. 53, Heft 5, S. 507.
10. Lampert, Die physikalische Seite des Gerinnungsproblems und ihre praktische Bedeutung. Leipzig, Thieme 1931.
    Derselbe, D. m. W. 1931, S. 2016.
11. Fonio, Deutsche Zeitschrift für Chirurgie, Bd. 117, S. 176ff.
12. Floeßner, Z. Biol. 1922, 77, 113.
13. Gutstein, Berlin. Med. Klinik Nr. 37 (9. 9. 32).
14. Deetjen, Virchows Archiv, Bd. 164, S. 239.
    Derselbe, Zentralblatt für Physiologie 1909, 23, 294.
15. Horwitz, Z. exper. Med. 1927, 1930.
    Derselbe, Z. f. d. ges. exper. Med., Bd. 73, S. 422ff.
16. K. Boshamer, Z. exper. Med. 1926, 48, S. 631.
    Derselbe, Fol. haemat. 1926, 32.
17. E. Hartmann, Breslau. Kli. Wo. XI. Nr. 44 (29. 10. 32).
18. Jepsen, Zeitschrift für klin. Med. Bd. 122, Heft 5, 6.
19. Stahl, M. m. W. 1921, 22, 667.
20. Doerr und Seidenberg, Kli. Wo. XII, Nr. 6, S. 227 (11. 2. 33).
21. K. v. Neergaard, Kli. Wo. 1932, S. 1661.
22. John Auer, Journ. of exper. Med. 1932, 56, 551.